Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

Die Ernährung der Algen

(Süsswasseralgen. I. Abhandlung)

von

Hans Molisch,

c. M. k. Akad.

(Mit 2 Textfiguren.)

(Vorgelegt in der Sitzung am 11. Juli 1895.)

Historisches.

Untersuchungen über das Nährelementenbedürfniss von grünen Land-Phanerogamen und von Pilzen liegen namentlich bezüglich der ersteren in grosser Menge vor. Hingegen sind meines Wissens noch keine systematischen Ernährungsversuche über Algen gemacht worden. Man hat vielmehr, wie aus der Litteratur hervorgeht, einfach ohne zu prüfen, die mit grünen Phanerogamen gemachten Erfahrungen auf die Algen übertragen. Dass eine solche Generalisirung von vorneherein nicht berechtigt ist, liegt auf der Hand. Sie kann möglicherweise zur Wahrheit, aber auch zu falschen Schlüssen führen, denn a priori lässt sich in solchen Dingen, abgesehen von jenen Elementen, welche sich an dem Aufbaue wesentlicher Bestandtheile der lebendigen Zelle betheiligen, nichts Bestimmtes voraussagen. Gewissheit können hier nur ausgedehnte Versuchsreihen schaffen. Demgemäss schien es mir wichtig, speciell die Ernährung der Algen in ähnlicher Weise, wie ich dies für Pilze that[1] und noch thue, genauer zu studiren.

Ein einzelner Versuch mit Algen beansprucht gewöhnlich eine lange Zeit (1—2 Monate), so dass ein umfassendes Studium

---

[1] H. Molisch, Die mineralische Nahrung der Pilze, I. Abhandlung. Diese Berichte, Bd. CIII, Abth. I, 1894.

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

der Algenernährung erst in einigen Jahren zum Abschluss kommen dürfte. Auch dürfen die mit Süsswasseralgen gewonnenen Resultate nicht ohne Weiteres auf die einem wesentlich anders zusammengesetzten Medium angepassten Meeresalgen übertragen werden. Ich beabsichtige daher in einer Reihe von Abhandlungen die Ernährung der Algen zu behandeln, und zwar zuerst die der Süsswasser- und dann die der Meeresalgen.

Meine in den letzten zwei Jahren ausgeführten Versuche haben bereits zu einigen Resultaten geführt, die ich in den folgenden Zeilen mittheilen will. Zuvor soll aber noch das Wesentliche über die Geschichte unseres Gegenstandes hier seinen Platz finden.

Unter den Arbeiten, die wir zu erwähnen haben, befindet sich keine einzige, welche auf die Eruirung der durchaus nothwendigen Nährelemente lossteuert. Man hielt es für selbstverständlich, dass die für die grünen Landphanerogamen als nothwendig erkannten Elemente auch den Algen unentbehrlich sind. Daher verfolgen denn auch die gleich zu erwähnenden Abhandlungen verschiedener Forscher Ziele, die mit der Ernährung zwar zusammenhängen, die aber mit der Feststellung der Nährelemente wenig oder gar nichts zu thun haben.

A. Famitzin[1] cultivirte behufs entwicklungsgeschichtlicher Beobachtungen Algen in der bekannten Knop'schen Nährlösung und fand, dass dieselben viel stärkere Concentrationen vertragen als Phanerogamen. Während man bei höheren Pflanzen gewöhnlich über eine 0·5% Lösung nicht hinauszugehen pflegt, konnte der genannte Autor eine üppige Entwicklung von *Mougeotia, Oedogonium, Stygeoclonium, Protococcus viridis* und anderen in 3% Lösung beobachten.

Einige sehr bemerkenswerthe Beobachtungen über Algen-Ernährung machten Loew und Bokorny.[2] Nach diesen beiden Forschern ist Salpetersäure bei Zygnemaceen eine günstigere

[1] A. Famitzin, Die anorganischen Salze als ausgezeichnetes Hilfsmittel zum Studium der Entwicklungsgeschichte der niederen Pflanzenformen. Botan. Zeitung, 1871, S. 781.

[2] O. Loew und Th. Bokorny, Chemisch-physiologische Studien über Algen. Journ. f. prakt. Chemie, Neue Folge, Bd. 36, 1887.

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

Stickstoffquelle als das Ammoniak. Es würden sich demnach diese Pflanzen diesbezüglich so verhalten wie die höheren Phanerogamen; indess betonen die Verfasser mit Recht, dass eine Verallgemeinerung für die anderen Algengruppen vorläufig nicht rathsam erscheint, da das Vorkommen einzelliger Algen auf Mistjauchen und Urinplätzen, also auf ammoniakhaltigen Substraten, eine ausgiebige Assimilation von Ammoniak beweise.

Ammoniaksalze erwiesen sich für *Spirogyra* als direct schädlich, ein Zusatz von 1 Salmiak pro mille Culturwasser verursacht nach einiger Zeit Absterben der Alge.

Auffallend und jedenfalls der Nachprüfung werth ist die Beobachtung von Loew und Bokorny,[1] dass *Spirogyra* in Natronsalpeter besser gedeiht als in Kalisalpeter. Bei Gegenwart von Kalisalpeter (nicht von Chlorkalium oder Monokaliumphosphat) trat in Gegensatz zu Natronculturen abnorm reichliche Stärkebildung und baldiges Absterben ein. Auch Knop[2] will eine günstige Einwirkung von Natronsalzen auf Algen beobachtet haben. Loew und Bokorny deuten die Sache so, dass zwar Kalium für die Alge nothwendig ist und dass dieselbe die nöthigen Spuren von Kalium in jedem Wasser vorfindet, dass aber ein Zusatz von 1 Kalisalpeter pro mille schon ein Zuviel ist, indem gewisse Functionen krankhaft gesteigert werden. Bei Zusatz von Natronsalpeter falle diese Störung hinweg.

Versuche, Algen mit organischen Stoffen z. B. mit Pepton, Asparaginsäure oder Glycerin zu ernähren, missglückten wegen der reichlich auftretenden Spaltpilze in den Culturen, doch sollen schliesslich Algen bei Ausschluss von Licht in einer 0·1% Lösung von Asparaginsäure, welche häufig gewechselt wurde, gewachsen und lange gesund geblieben sein.[3]

Endlich suchte O. Loew[4] durch Ernährung von *Spirogyra* in Nährlösungen mit und ohne Phosphor die physiologische Bedeutung dieses Elementes für die Pflanze festzustellen, wobei

---

[1] L. c. S. 275.

[2] Citirt nach Loew und Bokorny, ebenda S. 276.

[3] Loew und Bokorny, l. c. S. 277.

[4] Loew O., Über die physiologischen Functionen der Phosphorsäure. Biolog. Centralblatt, Bd. XI, Nr. 9 und 10.

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

er zu folgenden Ergebnissen gelangt: »Bei Zufuhr von Phosphaten wird Ernährung des Zellkernes und damit Wachsthum und Theilung der Zellen ermöglicht. Zellen von Spirogyren können zwar längere Zeit ohne Phosphatzufuhr leben und sowohl Stärkemehl als Eiweis bilden, doch leidet Wachsthum und Vermehrung. Die Ansicht, dass anorganische Phosphate sich bei dem Eiweissbildungsprocess betheiligen, findet in den Beobachtungen an Spirogyren keine Stütze.«

Von grosser Bedeutung ist die in letzter Zeit häufig aufgeworfene Frage, ob Algen den freien Stickstoff verwerthen können. Bekanntlich hat A. B. Frank[1] zuerst auf Grund von Versuchen die Behauptung aufgestellt, dass bodenbewohnende Algen im Stande seien, elementaren Stickstoff zu assimiliren, eine Behauptung, welche später durch lehrreiche Versuche von Schloesing und Laurent,[2] ferner von Alfred Koch und Kossowitsch[3] eine neue Stütze zu erhalten schien. Obwohl aus den Versuchen der fünf genannten Forscher zwar mit Sicherheit hervorging, dass die Algen bei der Stickstofffixirung irgendwie betheiligt waren, so blieb, da nicht mit Reinculturen von Algen, sondern mit Gemischen von diesen und anderen niederen Pflanzen, vor allen von Bacterien experimentirt wurde, doch die Frage offen, ob die Algen als solche oder unter Intervention von Pilzen freien Stickstoff fixiren, oder die Stickstoffbindung der Pilze vielleicht nur fördernd beeinflussen. Um diese Lücke auszufüllen, stellte Kossowitsch in einer als exact zu bezeichnenden Arbeit[4] neue Versuche mit Reinculturen von *Cystococcus* und *Stichococcus* und mit Gemischen von Algen und Bacterien an, und fand, dass die beiden genannten Algen an und für sich auch bei günstigen Wachsthumsbedingungen den freien Stickstoff der Atmosphäre nicht assimiliren können, dass aber die Fähigkeit der Stickstofffixirung anderen niederen Pflanzen (Bacterien) in hohem Masse innewohnt. Kossowitsch

[1] Frank A. B., Landwirthschaftl. Jahrbücher, 1888, S. 421 und Berichte der deutsch. botan. Ges., 1889, S. 34.

[2] Annales de l'institut Pasteur, 1892, p. 65 und p. 824.

[3] Untersuchungen über die Assimilation von freiem Stickstoff durch Algen. Botan. Zeitung, 1893, II. Abth., S. 321.

[4] P. Kossowitsch, Untersuchungen über die Frage, ob die Algen freien Stickstoff fixiren. Botan. Zeitung 1894, S. 97.

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

nimmt an, dass die Algen insoferne bei der Stickstofffixirung betheiligt sind, als sie durch Bildung und Abgabe von organischer Substanz die Bacterien mit Nahrung versehen.

Vor Kurzem beschrieb Th. Bokorny[1] eine Versuchsreihe über Ernährung von *Spirogyra*, Zygnemeen und *Mesocarpus* mit einer completen, einer magnesiumfreien und einer calciumfreien Nährlösung, wobei hauptsächlich auf eine etwaige Beziehung zwischen diesen beiden Elementen und gewissen Zellorganen die Aufmerksamkeit gerichtet war. Bokorny leitet nun aus seinen Versuchen ab, »dass bei voller Nährlösung eine normale Ausbildung sämmtlicher Zellorgane erfolgte, bei Calciummangel eine allmälig immer deulicher werdende Massenabnahme der Chlorophyllapparate, bei Calcium- und Magnesiummangel eine Schrumpfung des Kernes, sowie der Chlorophyllapparate (besonders auch der Pyrenoide)«. Er erklärt diesen Befund durch die Annahme O. Loew's, derzufolge Calcium unter Anderem für die Pflanze nothwendig sei, weil dieses Element als Calcium-Nucleïnverbindung an dem Aufbau des Kernes und der Chlorophyllkörper betheiligt sei.

Abgesehen von meinen später zu schildernden Versuchen, die nicht zu Gunsten der eben geäusserten Ansicht O. Loew's sprechen, scheint es mir mit Rücksicht auf das complicirte, uns noch fast ganz unbekannte chemische Getriebe in der lebenden Zelle nicht ohneweiters erlaubt, wofern bei Ausschluss eines Nährelementes sich eine mangelhafte Ausbildung eines Zellorganes einstellt, gleich eine directe Beziehung zwischen diesem Element und der chemischen Zusammensetzung des Zellorganes oder seiner Ausbildung überhaupt anzunehmen. Das Schrumpfen des Kernes oder des Chlorophyllkörpers könnte in den Bokorny'schen Versuchen ebenso gut eine Folge des mangelhaft ernährten Plasmas, also secundärer Natur sein.

Endlich sei noch einer Arbeit von Bouilhac[2] gedacht, welche zeigt, dass in Lösungen von Arsenaten ein üppiges

[1] Th. Bokorny, Über den Einfluss des Calciums und Magnesiums auf die Ausbildung der Zellorgane. Botan. Centralblatt, 1895, Bd. LXII, S. 1.

[2] M. R. Bouilhac, Influence de l'acide arsénique sur la végétation des algues. Comptes rendus 1894, No. 22 p. 929.

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

Gedeihen von Algen stattfindet, und welche zu beweisen sucht, dass Arsenate Phosphate bei der Ernährung von Algen vollständig vertreten können.

Eine Vertretbarkeit eines Elementes durch ein anderes ist mit Rücksicht auf die Pflanzenernährung oft behauptet worden. Ich erinnere nur an die einschlägigen Angaben Nägeli's, denenzufolge Magnesium durch Calcium, Strontium oder Baryum bei Pilzen vertretbar sein sollen. Ich habe vor Kurzem erst gezeigt,[1] dass Nägeli's Behauptungen auf ungenauen Untersuchungen beruhen und sich als vollständig unberechtigt erweisen, was Benecke[2] knapp darauf vollauf bestätigt hat. Auch die angebliche theilweise Vertretbarkeit von Magnesium durch Beryllium, welche von Sestini für Weizen angenommen wird, besteht nach den sorgfältigen Versuchen Benecke's höchstwahrscheinlich nicht, so dass die neuerdings wieder auftauchende Behauptung Bouilhac's von einer vollständigen Vertretbarkeit des Phosphors durch Arsen bei dem Eingeweihten einiges Misstrauen erwecken muss. Ich enthalte mich jedoch in diesem Punkte vorläufig eines bestimmten Urtheils, da ich in einer folgenden Abhandlung speciell dieser Frage näher zu treten gedenke.

Methodisches.

Die Versuchsanstellung, wie ich sie bei der Ernährung der Pilze in Anwendung gebracht und die ich früher[3] bereits ausführlich geschildert, stellte sich auch für Algenculturen als sehr zweckmässig heraus. Die Algen wurden ebenso wie die Pilze, wenn nicht ausdrücklich etwas anderes betont wird, in mit Baumwollpfropfen verschlossenen Erlenmeyer'schen Glaskolben von etwa 300 cm^3 Inhalt cultivirt, und zwar in Nährlösungen, auf deren Darstellung die grösste Sorgfalt verwendet wurde. Jeder, der sich mit der Ernährung niederer Organismen einige Zeit abgegeben hat, wird alsbald die Wahrnehmung machen, dass sowohl Pilze, wie Algen oft mit ausserordentlich

[1] H. Molisch, l. c. S. 566.

[2] W. Benecke, Ein Beitrag zur mineralischen Nahrung der Pflanzen. Ber. d. deutsch. botan. Ges., 1894, Generalversammlungsheft S. 105.

[3] H. Molisch, Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen, Jena 1892, S. 105, ferner meine Arbeit: Die mineralische Nahrung der niederen Pilze, l. c.

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

geringen Mengen mineralischer Stoffe ihr Auskommen finden,[1] weshalb jede Verunreinigung der Nährlösung, beziehungsweise der Nährsalze so weit als möglich vermieden werden muss. Alles, was ich darüber früher[2] äusserte, gilt auch mutatis mutandis für Algen, weshalb ich darauf einfach verweise.

Wollte jemand Ernährungsversuche mit Algen in Nährlösungen machen, wie sie für höhere Phanerogamen bereitet werden, wo die verwendeten Nährsalze in der Regel nicht erst einer besonderen Reinigung unterworfen werden, so würde er jedenfalls zu ganz unklaren Resultaten kommen. Man darf eben nicht vergessen, dass die von einer Alge entwickelte Menge an Pflanzensubstanz eine verschwindend kleine ist, im Vergleich zu der von Phanerogamen producirten. Jede mineralische Verunreinigung wird demnach bei den langsam wachsenden Algen einen relativ viel grösseren Effect hervorrufen können, während bei raschwüchsigen höheren Pflanzen diese durch schnellen Verbrauch alsbald unschädlich gemacht wird.

Welch grosse Sorgfalt bei unseren Versuchen nothwendig ist, geht schlagend aus dem Umstande hervor, dass man wenigstens in gewissen Experimenten von der Verwendung der Glasculturgefässe absehen oder dieselben vor ihrer Benützung derart behandeln muss, dass von der Glassubstanz nichts in Lösung gehen kann. Während der ziemlich langen Versuchsdauer könnten sonst leicht Spuren von Kalium, Calcium, Eisen und Silicium aufgelöst werden und das Versuchsresultat stören.

Da Platin ausserordentlich theuer ist und auch auf manche Algen nach langem Contact giftig wirkt, so versuchte ich es, um mich vom Glase unabhängig zu machen, mit Gefässen aus metallisch »reinem« Nickel, die ich mir in der Berndorfer Metallwarenfabrik für meine Zwecke eigens anfertigen liess. Es sei jedoch gleich bemerkt, dass sich derartige Nickelgefässe für meine Versuche als vollkommen unbrauchbar erwiesen, da das Nickel, offenbar weil Spuren davon in Lösung gehen, die Entwicklung

[1] Das Auftreten von Algen in mit destil. Wasser versehenen Glaskolben oder in mit Magnesiumsulfatlösungen erfüllten Flaschen bei Zutritt von Licht gibt dies schon zu erkennen.

[2] H. Molisch, Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen. Jena 1892, S. 105, ferner meine Arbeit: Die mineralische Nahrung der niederen Pilze, l. c.

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

der Algen vollständig verhindert. Nach längerem Herumprobiren kam ich endlich auf den Gedanken, die sorgfältig gereinigten Glasgefässe auf ihrer Innenseite mit einer dünnen Schichte von Paraffin zu belegen, um die Berührung der Nährflüssigkeit mit dem Glas zu verhindern. Diese Methode hat sich bei Algen [1] gut bewährt. Ich will nur erwähnen, dass kleine Chlorkalium- oder Zuckerkrystalle, welche der Glaswand anlagern und von der Paraffinhaut eingehüllt waren, durch die Nährlösung selbst nach mehreren Monaten nicht im Mindesten angegriffen wurden, wohl ein deutlicher Beweis dafür, dass die Nährlösung dann auch das Glas nicht angreifen konnte. Zur Verwendung kam absichtlich ein Paraffin von hohem Schmelzpunkte (74—78°), es ist das solide Paraffin der Pharm. germ. III, welches bei den Temperaturen, die bei den Versuchen in Betracht kommen, stets fest bleibt. Um die Glasgefässe an ihrer Innenfläche mit einer dünnen Paraffinhaut zu versehen, verfuhr ich in der Weise, dass ich in das vollständig trockene Gefäss — wenn dieses feucht ist, hebt sich die Paraffinhaut blasenartig ab — eine kleine Menge Paraffin goss, dann nach Verflüssigung desselben bei gelinder Wärme das Gefäss in horizontaler Lage kurze Zeit hin- und herrollte und dann rasch vertical stellte. Es vertheilt sich dabei das Paraffin in dünner Schichte in der unteren Hälfte des Kölbchens und erstarrt. Nach vollständiger Abkühlung wurde sodann die Nährlösung hineingegeben. Im Folgenden werden so behandelte Glasgefässe kurz als Paraffingefässe bezeichnet werden.

Das destillirte Wasser wurde entweder aus einem Glaskolben oder bei sehr heiklen Versuchen aus einer Platinretorte überdestillirt und nach Passirung eines Platinkühlers in einem Paraffingefäss aufgefangen.

Die Nährsalze wurden im reinsten Zustande, wo möglich als sogenannte »garantirt reine Reagentien« gekauft und überdies noch zwei- bis dreimal umkrystallisirt.

Obwohl Algen relativ sehr concentrirte Nährlösungen vertragen, so wählte ich doch mit Rücksicht auf meine Zwecke ziemlich verdünnte Nährlösungen, weil sich diese als aus-

[1] Hingegen nicht bei Pilzen, da die Hyphen nach längerer Zeit in das Paraffin eindringen.

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

reichend erwiesen und etwaige Verunreinigungen hier auf ein Minimum herabgedrückt werden. Die Culturen standen in starkem diffusen Lichte an einem Südfenster bei gewöhnlicher Zimmertemperatur.

Versuche mit Microthamnion Kützingianum Näg.[1] a genuinum (Naeg.) Hansg.

In dieser Alge erkannte ich ein ausgezeichnetes Versuchsobject. Sie trat spontan durch das ganze Jahr hindurch im Prager pflanzenphysiologischen Institute auf, war also stets leicht zu beschaffen. Sie scheint keiner Ruheperiode zu bedürfen, vermehrt sich bei genügender Nährstoffzufuhr beständig und ausserordentlich rasch. Unter günstigen Umständen erhält man bereits in 2—3 Wochen üppige Culturen.

Mit dieser Alge wurde nun eine grosse Reihe von Versuchen, welche Aufschluss geben sollten über das Nährelementenbedürfniss, durchgeführt.

Die Nährlösungen hatten folgende Zusammensetzung:

Die complete Nährlösung:

1. 250 *g* destillirtes Wasser,
   0·2 *g* $PO_4(NH_4)_2H$[2]
   0·1 *g* PO_4KH_2
   0·1 *g* SO_4Mg
   0·1 *g* SO_4Ca
   Spur Eisenvitriol[3] (2 Tropfen einer 1% Lösung).

Die kalkfreie Nährlösung:

2. Die Lösung 1, aber ohne SO_4Ca.

Die phosphorfreie Nährlösung:

3. 250 *g* destillirtes Wasser,
   0·2 *g* NO_3K
   0·1 *g* SO_4Mg
   0·1 *g* SO_4Ca
   Spur Eisenvitriol.

---

[1] Für die Bestimmung dieser und einiger anderer Algen bin ich Herrn Prof. Dr. Richard Ritter v. Wettstein zu grossem Danke verpflichtet.

[2] Anstatt dieses Körpers bot ich den Stickstoff häufig in der Form KNO_3.

[3] Mehr Eisen wirkt leicht giftig.

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

Die stickstofffreie Nährlösung:

4. Die Lösung 1, aber ohne $PO_4(NH_4)_2H$.

Die kaliumfreie Nährlösung:

5. Die Lösung 1, aber ohne PO_4KH_2.

Die magnesiumfreie Nährlösung:

6. Die Lösung 1, aber ohne SO_4Mg.

Die schwefelfreie Nährlösung:

7. 250 *g* destillirtes Wasser,
   0·2 *g* $PO_4(NH_4)_2H$
   0·1 *g* PO_4KH_2
   0·1 *g* $(NO_3)_2Mg$
   0·1 *g* $P_2O_8Ca_3$
   Spur Eisenvitriol.

Die eisenfreie Nährlösung:

8. Die Lösung 1, aber ohne Eisenvitriol.

Die entsprechenden Nährlösungen wurden auf je 5, also zusammen auf 40 Erlenmeyer'sche Kölbchen vertheilt, indem jedes Kölbchen 50 cm^3 der Nährlösung erhielt. Hierauf wurde mittelst einer sterilisirten Platinröse eine sehr kleine Menge der Alge von einer Cultur, die nur diese Art und vereinzelte Bacterien enthielt, überimpft, nachdem die Impfmasse zuvor noch in destillirtem Wasser abgespült wurde, um die im Impftropfen vorhandenen gelösten mineralischen Substanzen auf ein Minimum herabzudrücken. Jedes Kölbchen erhielt einen Wattapfropfverschluss. Mit Rücksicht auf den Zweck unserer Versuche hätte es selbstverständlich gar nichts geschadet, wenn sich in den Culturen noch andere Algen vorgefunden hätten, was thatsächlich bei einzelnen Kölbchen auch der Fall war.

Das Resultat der Versuche war nun Folgendes. In den Gefässen mit der completen Nährlösung und in der kalkfreien entwickelten sich schon nach 8 Tagen (im Sommer) ansehnliche Algenräschen, nach 2—3 Wochen erschienen alle diese Kölbchen schon von Weitem tiefgrün — in scharfem Gegensatze zu allen anderen Culturgefässen, in welchen von einer Weiterentwicklung der Alge noch nichts zu bemerken war und welche daher ganz farblos erschienen. Erst nach

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

4 Wochen machte sich in den eisenfreien Culturen eine ganz geringe Entwicklung geltend, doch war diese minimal zu bezeichnen im Vergleich zu der in den completen oder kalkfreien Nährstofflösungen. Die Weiterentwicklung in den eisenfreien Culturen blieb auch später noch gehemmt, auch hatten sie eine weniger tiefgrüne Färbung. So stand die Sache auch nach 2 Monaten, nach welcher Zeit der Versuch abgebrochen wurde. Dass selbst in der kalium- und in der schwefelfreien Lösung sich keine Spur einer Entwicklung zeigte, beweist wohl genug deutlich, dass meine Nährlösungen frei von Verunreinigungen waren und dass sich die Paraffingefässe sehr bewährten, denn Jedermann weiss, wie schwer es ist, Kalium- oder Schwefelspuren von der Nährlösung ferne zu halten. Der Versuch lehrte also zunächst, dass ohne die Elemente Stickstoff (in gebundener Form), Kalium, Schwefel, Magnesium, Phosphor und Eisen ein Gedeihen unserer Alge nicht statt hat.

In den stickstofffreien Gefässen war nicht bloss die Entwicklung gehemmt, sondern es büsst die Impfmasse ihre Farbe auch ein. Bei Wiederholung dieser Versuche zeigte sich mit stickstofffreien Lösungen in gewöhnlichen Glasgefässen mitunter eine schwache Entwicklung der Alge, doch nehmen die Fäden alsbald eine weisse Farbe an, so dass sie dem freien Auge wie Pilzfäden erschienen.

In hohem Grade beachtenswerth ist, dass die Algen zu ihrer Entwicklung gebundenen Stickstoff benöthigen. Ich hebe dies hervor mit Rücksicht auf die Bestrebungen Frank's,[1] die Fähigkeit, elementaren Stickstoff zu assimiliren, nicht nur den Leguminosen, sondern allen grünen Pflanzen, somit auch den Algen zuzuschreiben. Obwohl meine Versuche ursprünglich gar nicht darauf gerichtet waren, so haben sie doch auch bezüglich der Stickstofffrage ein Resultat geliefert. Hätten die Algen sich in den stickstofffreien Gefässen entwickelt, so hätte man keinen bestimmten Schluss ziehen können, da ja die Möglichkeit nicht ausgeschlossen war, dass gebundener Stickstoff in Form von Ammoniak, salpetriger oder Salpeter-

[1] L. c.

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

säure aus der Atmosphäre durch den Baumwollpfropf hätte in die Nährlösung gelangen können. Trotz dieser Möglichkeit hat sich aber die Alge gar nicht entwickelt; um so sicherer dürfen wir daher schliessen, dass sie mit dem in Menge vorhandenen freien Stickstoff der atmosphärischen Luft nichts anzufangen weiss. Ich befinde mich dabei in voller Übereinstimmung mit den Versuchsergebnissen von Kossowitsch, der auf Grund anderer Experimente mit Reinculturen von Algen, denen Stickstoff in gebundener Form zur Verfügung stand, ebenfalls zu demselben Schlusse kam.[1] Immerhin wäre es jedoch denkbar, dass die Algen in irgend einer Beziehung zur Stickstofffixirung von Bodenbacterien stehen, etwa nach der Annahme von Kossowitsch in einem symbiotischen Verhältnisse leben, ihnen hiebei organische Substanzen zukommen lassen und sie hiedurch auch in der Stickstoffassimilation fördern. Übrigens ist es gar nicht nothwendig, hier gleich an eine Art Symbiose zu denken, es wäre ja auch möglich, dass die organische und anorganische Substanz der nach und nach absterbenden Algen den Pilzen zur üppigen Ernährung dient und hiedurch ihre Leistungen begünstigt.

Das Resultat der Versuche war aber weiterhin insoferne im höchsten Grade überraschend, als es auf das Bestimmteste lehrte, dass unsere Alge des Kalkes nicht bedarf. Ich habe diese Thatsache bereits früher durch Versuche in Glasgefässen ohne Paraffin zu wiederholten Malen constatiren können, habe mir aber sofort den Einwand gemacht, dass vielleicht Spuren von Kalk aus dem Glase gelöst wurden. Eben dieser Umstand war es, der mich auf die Verwendung von Paraffingefässe leitete. Das Ergebniss war aber in diesen ganz dasselbe, obwohl von einer Lösung des Glases nicht die Rede sein konnte. Überdies ergab die spectroskopische Prüfung der Nährlösung die Abwesenheit jeder nachweisbaren Spur von Kalk. Da die Nährlösung mit aller nur möglichen Sorgfalt dargestellt war, da der Versuch auch dann, als die Impfmasse von kalkfreier Cultur genommen wurde, wieder dasselbe Resultat gab, so folgt eben mit zwingender Nothwendigkeit daraus der

[1] L. c.

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

Schluss, dass unsere Alge ebenso wie niedere Pilze ohne Kalk ihre Entwicklung durchmachen und dabei ihr ursprüngliches Gewicht gewiss um das Vielhundertfache vermehren kann.

Bei weiteren Untersuchungen mit drei anderen Algen, nämlich mit *Stichococcus baccilaris* Naeg. *b major* Rbh., *Ulothrix subtilis*(?) Kg. und *Protococcus* sp. ergab sich bezüglich des Nährelementenbedürfnisses ganz dasselbe Resultat, und zwar auch bezüglich des Stickstoffes und des Kalkes. Es gibt also gewiss zahlreiche niedere Algen, welche Kalk nicht benöthigen. Es gilt dies aber nicht für alle Algen, denn *Spirogyra* und *Vaucheria* gehen ohne Kalk bald zu Grunde. Während diese beiden Pflanzen in completen kalkhältigen Nährlösungen recht gut gedeihen, sterben sie in kalkfreien, sonst aber completen Lösungen bald, *Spirogyra* oft schon nach wenigen Stunden ab. Für diese und wahrscheinlich auch für viele andere ist der Kalk nothwendig. Die Wichtigkeit dieser Base für *Spirogyra* betonen übrigens schon Loew[1] und Bokorny.[2]

Von Interesse ist, dass das Absterben von *Spirogyra*, wie auch schon Loew[3] fand, in kalkfreien Lösungen durch einen Zusatz kleiner Mengen von Strontiumsalzen auf lange Zeit hinausgeschoben wird. »In einer vollen Nährlösung« sagte Loew, »welche statt des Calciumnitrates Strontiumnitrat enthielt, lebten die Spirogyren (bei 10—14° C.) längere Zeit (3 Wochen). ..... Auch Baryumsalze werden längere Zeit ertragen«.

Ich machte folgenden Versuch: Eine kleine Menge von *Spirogyra* sp. kam

1. in destillirtes Wasser;
2. in eine complete Nährstofflösung;
3. in eine complete Nährstofflösung weniger Kalk;
4. in eine complete Nährstofflösung weniger Kalk, aber + Strontiumchlorid;
5. in eine complete (kalkhältige) Nährstofflösung + Strontiumchlorid.

---

[1] Loew, Flora, 1892, S. 382.

[2] Bokorny, Botan. Centralblatt, l. c.

[3] Loew, l. c. S. 392 und 393.

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

In der Nährlösung 1, 2, 4 und 5 blieben alle Fäden mehrere Wochen am Leben, in der Lösung 3 hingegen waren nach 5 Tagen alle abgestorben. In den Culturen mit Strontium findet einige Zeit Wachsthum und Vermehrung der Zellen statt, so dass man geneigt wäre, an eine vollständige Ersetzbarkeit des Calciums durch Strontium zu denken. Wenn auch von einer solchen nicht die Rede sein kann, wie wir gleich sehen werden, so ist doch zweifellos, dass bis zu einem gewissen Grade bei *Spirogyra* die Rolle des Calciums von dem Strontium übernommen wird.[1] A priori erscheint es auch nicht unmöglich, dass ein dem Calcium verwandtes, theils mit denselben, theils mit ähnlichen Eigenschaften ausgerüstetes Element, das Calcium partiell ersetzen kann. Nehmen wir z. B. an, dass Calcium die Aufgabe hätte, die Anhäufung freier schädlicher Säuren zu hindern (Schimper), so könnte diese Rolle das Strontium möglicherweise auch besorgen. Vermöge anderer, dem Calcium nicht zukommenden Eigenschaften könnte aber gleichzeitig das Strontium in seinen Verbindungen noch in anderer eigenartigen und zwar schädlicher Weise einwirken, und eben deshalb ausser Stande sein, das Calcium zu ersetzen. Von einem wirklichen vollen Ersatz des Ca durch Strontium kann bei *Spirogyra* thatsächlich auch nicht die Rede sein, da die Zellen alsbald unter dem Einflusse der Strontiumverbindung eine auffallende abnorme Erscheinung aufweisen und schliesslich absterben. Die Zelltheilungen vollziehen sich nach einigen Tagen nicht mehr normal, indem die Querwände eine unvollständige Ausbildung erfahren. Diese springen sehr oft nicht bis gegen die Mitte vor und erscheinen häufig als zapfenartige, unregelmässige Vorsprungsbildungen, wie in Fig. 1 *a*. Demgemäss werden die Protoplasten der einzelnen Zellen nicht mehr vollends separirt.

[1] Analoges habe ich bei Keimlingen der Bohne beobachtet. Während Wurzeln in einer kalkfreien Lösung im Wachsthum stillestehen oder sogar absterben, wachsen sie in derselben Lösung nach Zusatz von Strontiumchlorid recht gut. Das Absterben des Stengels wird bei Ausschluss von Kalk durch Strontium etwas hinausgeschoben, schliesslich erfolgt aber doch, und zwar zu einer Zeit, wo die Cotylen noch prall mit Reservestoffen gefüllt sind, das Absterben des Stengels. Man kann somit mittelst Strontium den durch Kalkmangel bedingten Tod der Pflanze hinausschieben, aber nicht verhindern.

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

sondern bleiben durch mehr minder breite Protoplasmabrücken in Verbindung. Oft hängen — man kann sich durch Einleitung von Plasmolyse davon leicht überzeugen — die Protoplasten von 2—5 benachbarten Zellen mit einander direct zusammen, Fig. 2. Überdies erleidet unter dem Einflusse des Strontiums das Chlorophyllband nicht selten auffallende Störungen in seinem Verlauf und Umriss.

Diejenigen, welche mit Böhm den Kalk als nothwendig für den Aufbau der vegetabilischen Zellhaut erachten, würden vielleicht diese Thatsache zu Gunsten der Böhm'schen Ansicht deuten. Auch ich war anfangs geneigt, die unvollständige

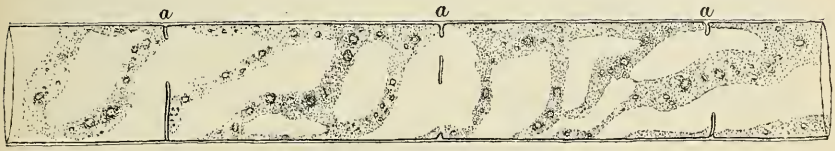

Fig. 1.

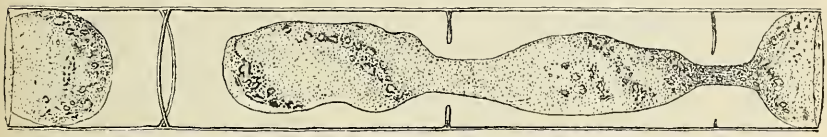

Fig. 2.

Querwandbildung durch Kalkmangel zu erklären, allein ich kam davon alsbald ab, als ich mich überzeugte, dass sich die unvollständige Querwandbildung auch dann einstellte, als ich *Spirogyra* in Nährlösungen cultivirte, die gleichzeitig Strontium und Calcium enthielten. Die Erscheinung tritt auch hier ein, wenn auch nicht so prägnant.

Ich habe vor Kurzem nachgewiesen, dass niedere Pilze des Kalkes entrathen können[1] und dass hierin ein wichtiger Unterschied in dem Nährelementenbedürfniss zwischen den niederen Pilzen[2] und höheren grünen Landpflanzen gegeben sei. Diese

[1] Molisch H., Die mineralische Nahrung etc., l. c.

[2] Es ist nicht ausgeschlossen, dass gewisse höhere Pilze des Kalkes doch bedürfen.

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

Einschränkung war, wie sich nunmehr zeigt, sehr am Platze, denn wir kennen jetzt bereits auch grüne Pflanzen, nämlich niedere Algen, welche mit den Pilzen insoferne auch eine gewisse gewisse Verwandtschaft bekunden, als sie des Kalkes nicht bedürfen.

Diese Thatsache hat aber meiner Meinung nach auch insoferne grosse Bedeutung, als sie ein Streiflicht auf die Frage nach der Bedeutung des Kalkes für die Pflanze wirft. Ich werde mich darüber ganz kurz fassen, da ich diese Frage an einem anderen Orte speciell behandeln werde.

Böhm war der Meinung, dass der Kalk bei der Umbildung organischer Baustoffe in Formbestandtheile des Pflanzenleibes eine analoge Rolle spiele wie bei der Metamorphose des Knorpels im Knochen.[1] Die Böhm'sche Annahme über die Bedeutung des Kalkes verliert durch meine Untersuchungen ausserordentlich, denn die Thatsache, dass niedere Pilze und gewisse Algen des Kalkes nicht bedürfen und doch ihre Membranen bilden, steht im Widerspruche damit.

Ferner hat O. Loew[2] vor wenigen Jahren die Ansicht zu begründen versucht, dass der Kalk an dem Aufbau des Zellkernes und der Chlorophyllkörner Antheil nimmt, und zwar sollten diese beiden Zellorgane aus einer Calciumverbindung von Nucleïn und Plastin bestehen. Derselben Auffassung schliesst sich Bokorny[3] in seiner oben citirten Arbeit an. Nun sehen wir aber, dass Pilze ihre Zellkerne und gewisse Algen diese und überdies Chlorophyllkörper normal entwickeln, ganz ohne Kalk. Dies deutet wohl sehr darauf hin, dass der Kalk im Dienste eines bestimmten Stoffwechselprocesses steht, der den niederen Pilzen und unseren Versuchsalgen abgeht. Es gewinnt damit die Ansicht Schimper's,[4] derzufolge die Rolle des Kalkes darin besteht, dass die für das Plasma giftige Oxalsäure fest-

[1] Böhm J., Über den vegetabilischen Nährwerth der Kalksalze. Diese Berichte, 1875, April-Heft.

[2] Loew O., Über die physiologischen Untersuchungen der Calcium- und Magnesiumsalze etc., l. c. S. 393.

[3] Bokorny Th., Über den Einfluss des Calciums etc., l. c.

[4] A. F. W. Schimper, Zur Frage der Assimilation der Mineralsalze durch die grüne Pflanze. Flora, 1890, S. 249.

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

gelegt werden soll, ausserordentlich an Wahrscheinlichkeit. Ob der Kalk nur diese Function hat oder noch andere, bleibt vorläufig noch unentschieden.

Beiläufig sei hier bemerkt, dass die Behauptung Deherain's (Fremy, Encyclopédie chimique, T. X, Nutrition de la plante, p. 19), derzufolge Keimlinge der Bohne etc. sich bei Ausschluss von Kalk bis zum völligen Verbrauch der Reservestoffe normal entwickeln, wofern sie bei höherer Temperatur (30—35° C.) gehalten werden, auf irgend einem Versehen beruhen muss. Ich habe mich im Gegentheil durch zahlreiche Versuchsreihen überzeugt, dass Bohnen, Wicken, Erbsen und zahlreiche andere Keimlinge in kalkfreien Lösungen bei hoher Temperatur (30 bis 35° C.) sogar früher absterben als bei gewöhnlicher Zimmertemperatur (18° C.). Ähnliches wie ich fand O. Loew für *Spirogyra* (Flora, 1892, l. c. 372).

Zusammenfassung.

1. Die untersuchten Süsswasseralgen benöthigen zu ihrer Ernährung, mit einer Einschränkung bezüglich des Calciums, dieselben Elemente (C, H, O, N, S, K, Mg, P und Fe) wie die höhere grüne Pflanze.

2. Bei den Versuchen hat sich die überraschende Thatsache ergeben, dass zahlreiche Algen (*Microthamnion Kützingianum* Naeg., *Stichococcus baccilaris* Naeg., *Ulothrix subtilis*(?) Kg. und *Protococcus* sp.) des Kalkes völlig entbehren können, während andere wie *Spirogyra* und *Vaucheria* in einer sonst completen aber kalkfreien Nährlösung alsbald zu Grunde gehen. Es verhalten sich demnach gewisse Algen wie niedere Pilze, die ja bei vollständigem Ausschlusse von Kalk sich gleichfalls normal entwickeln. Der bisher als richtig anerkannte Satz, dass jede grüne Pflanze Calcium zu ihrer Ernährung benöthigt, ist also nicht mehr allgemein richtig, denn er gilt für einen Theil der Algen nicht.

Dies wirft ein interessantes Streiflicht auf die Beurtheilung der Kalkfunction in der Pflanze, und zwar insoferne als meine Versuche weder für die Annahme Böhm's, dass der Kalk zum Aufbau der vegetabilischen Zellhaut nothwendig sei, noch für die Ansicht O. Loew's sprechen, der den Kalk bei dem Aufbau

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

des Zellkerns und der Chlorophyllkörper eine Rolle spielen lässt. Wir kennen nämlich jetzt zahlreiche Pilze und Algen, welche ohne jede Spur von Kalk ihre Membranen, Zellkerne, beziehungsweise Chlorophyllkörper ausbilden. Der Kalk ist also nicht ein wesentlicher Bestandtheil jeder lebenden Zelle, sondern dürfte in specifische Stoffwechselprocesse eingreifen, und höchst wahrscheinlich in erster Linie der Anhäufung freier Säuren oder ihrer giftig wirkenden löslichen Salze entgegen zu wirken haben in der Weise wie dies Schimper's Hypothese plausibel gemacht hat.

3. Der von meinen Algen assimilirte Stickstoff musste in gebundener Form geboten werden, da sie den freien Stickstoff der Athmosphäre nicht zu assimiliren vermochten — in Übereinstimmung mit den Versuchen von Kossowitsch und im Widerspruche mit der Annahme von Frank.